



**SKRIPSI**

# **BIFLAVONOID DARI KAYU BATANG *Garcinia tetranda* Pierre**

**MOHAMMAD RASYIED WAHYUDI  
NRP. 1411 100 003**

Dosen Pembimbing  
Prof. Dr. Taslim Ersam

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2015**



SCRIPT

## **BIFLAVONOID FROM STEM OF *Garcinia tetranda* Pierre**

**MOHAMMAD RASYIED WAHYUDI**  
**NRP. 1411 100 003**

Advisor Lecturer  
Prof. Dr. Taslim Ersam

**CHEMISTRY DEPARTMENT**  
**FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES**  
**SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY**  
**SURABAYA**  
**2015**

**BIFLAVONOID DARI KAYU BATANG *Garcinia tetranda*  
*Pierre***

**SKRIPSI**

Disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Sains  
Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember  
Surabaya

Oleh:

**MOHAMMAD RASYIED WAHYUDI  
NRP 1411 100 003**

Surabaya, 7 Juli 2015

JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN  
ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2015

## LEMBAR PENGESAHAN

**BIFLAVONOID DARI KAYU BATANG *Garcinia tetrandra*  
*Pierre***

### SKRIPSI

Oleh:

**MOHAMMAD RASYIED WAHYUDI  
NRP 1411 100 003**

Surabaya, 7 Juli 2015  
Mengetahui,  
Dosen Pembimbing,

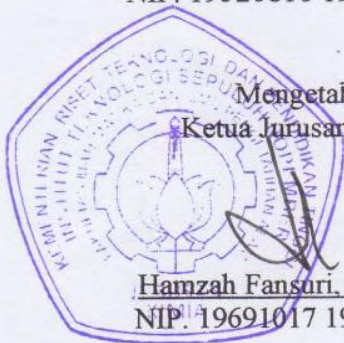
Prof. Dr. Taslim Ersam

NIP. 19520816 197903 1 004

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia,

Hamzah Fansuri, M.Si, Ph.D

NIP. 19691017 199412 1 001



## BIFLAVONOID DARI KAYU BATANG *Garcinia tetranda* *Pierre*

Nama Mahasiswa : Mohammad Rasyied Wahyudi

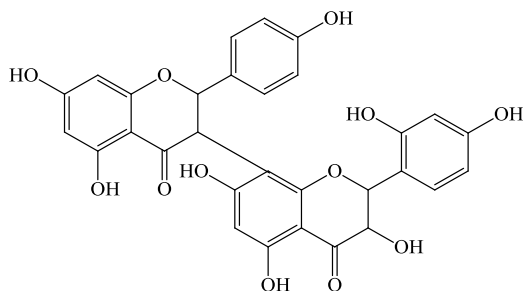
NRP : 1411 100 003

Jurusan : Kimia ITS

Pembimbing : Prof. Dr. Taslim Ersam

### ABSTRAK

Senyawa 5, 7, 4', 3'', 5'', 7'', 2''',4''' – heptahidroksi-[3,8'']- biflavanon (**1**) telah berhasil diisolasi dari kayu batang *Garcinia tetranda* Pierre. Senyawa berupa padatan kuning dengan titik leleh 231-232<sup>0</sup>C. Penentuan struktur senyawa dilakukan menggunakan analisis UV, IR, <sup>1</sup>H dan <sup>13</sup>C NMR, serta DEPT 135,.



( **1** )

**Kata kunci :** Biflavanoid, *Garcinia tetranda* Pierre, Clusiaceae

BIFLAVONOID FROM STEM OF *Garcinia tetrandra* Pierre

**Name : Mohammad Rasyied Wahyudi**

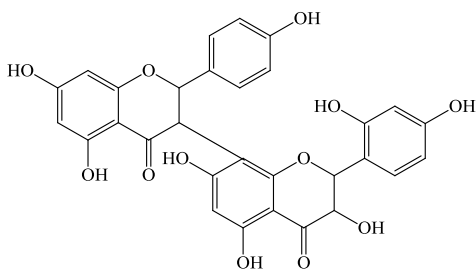
**NRP : 1411 100 091**

**Department : Chemistry ITS**

**Advisor Lecture : Prof. Dr. Taslim Ersam**

## ABSTRACT

5, 7, 4, 3'', 5'', 7'', 2''', 4''' – heptahidroksi- [3,8'']-biflavanon (**1**) compound have been isolated successfully from stem wood *Garcinia tetrandia* Pierre. Compound was obtained as a yellow powder with melting point 231-232°C. The structure of compound was characterized by spectroscopy analysis with UV, IR, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, and DEPT 135.



(1)

**Keywords :** Biflavonoid, *Garcinia tetranda* Pierre, Clusiaceae

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga naskah Skripsi berjudul “**Senyawa Fenolat Dari Kayu Batang *Garcinia tetranda* Pierre** dapat diselesaikan dengan baik. Tulisan ini tidak akan terwujud dengan baik tanpa bantuan dan dukungan dari semua pihak. Untuk itu penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Taslim Ersam, MS, selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah Tugas Akhir ini.
2. Hamzah Fansuri, M.Si, Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia atas fasilitas yang telah diberikan hingga naskah Tugas Akhir ini dapat terselesaikan.
3. Djoko Hartanto, S.Si, M.Si, selaku dosen wali atas pengarahannya dalam pengambilan mata kuliah.
4. Ayah dan Bunda yang selalu memberikan semangat, dukungan dan doa.
5. Dosen dan teman-teman Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis yang membantu dan memberikan semangat dalam pengerjaan Tugas Akhir ini.
6. Wulandhari S.Pd yang memberikan bantuan dan semangat yang luar biasa kepada penulis.
7. Teman-teman angkatan 2011 Kimia ITS atas semua perhatian dan dukungannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan naskah Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan. Oleh karena itu, penulis terbuka terhadap kritik dan saran yang membangun. Semoga Skripsi ini memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 18 Juni 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1    Latar Belakang.....	1
1.2    Permasalahan.....	3
1.3    Tujuan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI.....	5
2.1    Tinjauan Famili Clusiaceae.....	5
2.2    Biosintesis Senyawa Fenolat Genus <i>Garcinia</i> .....	6
2.3    Tinjauan Botani <i>Garcinia tetranda</i> Pierre.....	8
2.4    Tinjauan Senyawa Biflavonoid.....	8
2.5    Metode Ekstraksi.....	13
2.6    Karakterisasi.....	14
2.6.1.    Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti.....	14
2.6.2.    Spektroskopi UV-Vis.....	16
2.6.3.    Spektroskopi IR.....	16



BAB III METODOLOGI PERCOBAAN .....	19
3.1    Alat.....	19
3.2    Bahan.....	19
3.3    Isolasi Senyawa Biflavonoid dari Kulit Batang <i>G.tetranda</i> Pierre .....	19
3.3.1 Fraksinasi Fraksi 2e .....	19
3.3.2 Pemisahan dan Pemurnian Fraksi E .....	20
3.3.3 Uji Kemurnian .....	20
3.3.4 Pengujian Spektrofotometer UV .....	21
3.3.5 Pengujian spektrofotometer IR .....	21
3.3.6 Pengujian spektrofotometer NMR.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	23
4.1    Uji Pendahuluan .....	23
4.2    Fraksinasi Fraksi 2e <i>Garcinia tetranda</i> Pierre .....	24
4.3    Proses Pemurnian dan Uji Kemurnian Kristal .....	26
4.4    Elusidasi Struktur .....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	39
5.1    Kesimpulan.....	39
5.2    Saran.....	39
DAFTAR PUSTAKA.....	41
LAMPIRAN.....	47
BIODATA PENULIS.....	49

## DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV 1 .....	24
Tabel 4. 2 Hasil Uji Kelarutan.....	26
Tabel 4. 3 Perbandingan $\delta H$ dan $\delta C$ Senyawa <b>(1)</b> dan <b>(8)</b> .....	35
Tabel 4. 4 Hasil Uji DEPT 135.....	37

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur Biosintesis senyawa fenolat (Ersam, 2005) .....	7
Gambar 2.2 Pergeseran kimia dari $^1\text{H}$ NMR (Silverstein, 1998).15	
Gambar 2.3 Pergeseran kimia dari $^{13}\text{C}$ -NMR (Silverstein, 1998). .....	15
Gambar 4.1Kromatogram Uji Pendahuluan yang di elusi dengan a) <i>n</i> -heksana 100%, b)Metilen klorida 100%, c) Etil Asetat 100% dan d) Metanol 100%.....	23
Gambar 4.2 Kromatogram pemisahan KCV I yang dielusi dengan kloroform : metanol (80:20).....	25
Gambar 4.3 Kromatogram fraksi gabungan pemisahan KCV I ..	25
Gambar 4.4 Kromatogram KLT dengan eluen kloroform : metanol (80:20) hasil rekristalisasi dengan pelarut <i>n</i> - heksana dan etil asetat .....	27
Gambar 4.5 Kromatogram KLT dengan eluen kloroform : metanol (80:20) hasil rekristalisasi dengan pelarut <i>n</i> - heksana dan aseton.....	28
Gambar 4.6 Kromatogram KLTP .....	28
Gambar 4.7 Kromatogram KLT uji kemurnian senyawa 1 .....	29
Gambar 4.8 Spektra UV Senyawa 1 dalam MeOH dan MeOH+NaOH.....	30
Gambar 4.9 Kesetimbangan keto-enol dengan NaOH .....	30
Gambar 4.10 Spektra UV Senyawa 1 dalam MeOH, MeOH+AlCl <sub>3</sub> dan MeOH+AlCl <sub>3</sub> +HCl.....	31
Gambar 4.11 Spektra IR senyawa 1 dalam plat KBr .....	32
Gambar 4.12 Spektra $^1\text{H}$ -NMR dengan pelarut metanol.....	33
Gambar 4.13 Spektra $^{13}\text{C}$ -NMR dengan pelarut metanol.....	34
Gambar 4.14 Spektra DEPT 135.....	32

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan hutan tropis yang sangat luas sehingga didalamnya terdapat aneka ragam hayati yang memiliki manfaat dan dijadikan sebagai obat-obatan tradisional, salah satunya pada famili Clusiaceae. Clusiaceae memiliki 40 genus dan 1.200 spesies yang tersebar merata di dunia dengan lima genus utama yaitu *Calophyllum*, *Mesua*, *Mammea*, *Cratoxylum* dan *Garcinia* (Sultanbawa, 1980). Uji bioaktivitas beberapa senyawa fenolat dari famili Clusiaceae menunjukkan adanya aktivitas secara farmakologi sebagai anti HIV, anti kanker, antiinflamasi, antitumor, pengobatan penyakit hepatitis, radang usus, dan antileukimia (Dharmante dan Wanigasekera, 1996; Peres dan Nagem, 1997). Pada spesies-spesies dalam satu genus memiliki afinitas kimia yang sama dimana afinitas kimia adalah kemampuan untuk membentuk suatu senyawa kimia yang identik atau khas serta pada setiap bagian tumbuhan menghasilkan kandungan senyawa kimia yang berbeda (Ersam, 2001).

Terdapat 64 spesies dari genus *Garcinia* yang memiliki berbagai manfaat dalam kehidupan manusia berdasarkan hasil penelitian tahan uji puslit Biologi-LIPI Bogor pada tahun 2007 serta tercatat 22 jenis *Garcinia* yang buahnya dapat dimakan serta 21 spesies lainnya memiliki kualitas kayu yang tinggi sebagai bahan bangunan dan digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti disentri, cacingan, peradangan pada saluran kemih, tumor rongga mulut dan kerongkongan. Berdasarkan studi

literatur, tumbuh-tumbuhan genus *Garcinia* dikenal sebagai sumber senyawa santon dan biflavonoid (Waterman, 1980). Salah satu Spesies *Garcinia* yang belum banyak diteliti adalah *Garcinia tetranda* Pierre (wadung). Spesies ini banyak ditemukan di Taman Nasional Meru Betiri sebagai koleksi tumbuhan. Pada penelitian sebelumnya *Garcinia tetranda* Pierre dilaporkan banyak mengandung senyawa santon dan biflavonoid. Senyawa biflavonoid yang terdapat pada kayu batang *Garcinia tetranda* Pierre dapat di manfaatkan sebagai antibakteri (Sulistyaningrum, 2008) serta senyawa santon dari kayu batang *Garcinia tetranda* Pierre menunjukan berbagai aktivitas biologi seperti antitoksik, antioksidan, dan antibakteri (Purwaningsih, 2006). Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat proses degradasi oksidatif. Degradasi oksidatif ini diawali dengan adanya molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan yang disebut dengan radikal bebas. Senyawa fenolat atau polifenolat merupakan antioksidan alami yang dapat disintesis oleh tumbuhan. Senyawa ini dapat mengganggu pembentukan radikal bebas dengan cara menghambat terjadinya tahap propagasi pada rantai pembentukan radikal bebas (Mukopadhyay, A.K., 2006)

Pada penelitian sebelumnya yang dilaporkan oleh Novi (2008) telah berhasil mengisolasi dua senyawa biflavonoid seperti GB-1 **(6)** dan 5,7,4',5'',7'',3''',4'''-heptahidroksi-2'''-metoksi flavanon-[3,8'']-flavon **(7)** dari kayu batang *Garcinia tetranda* Pierre dan aktif untuk pencegahan penyakit setelah diuji bioaktivitasnya. Dua senyawa tersebut didapat dari fraksi gabungan CD dan fraksi gabungan D3a namun masih terdapat fraksi yang belum diteliti seperti fraksi A, B, D3b, 2e dan F. Fraksi A, B, D3b dan F memiliki massa yang relatif kecil sehingga tidak mungkin untuk dilakukan penelitian lanjutan

sehingga dipilih fraksi 2e yang memiliki peluang untuk dilakukan penelitian lanjutan karena fraksi 2e memiliki massa yang cukup dan mengandung senyawa biflavonoid yang relatif tinggi menurut hasil monitoring KLT uji pendahuluan. Dari uraian diatas maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang adanya senyawa biflavonoid pada kayu batang tumbuhan *Garcinia Tetranda* Pierre.

## **1.2 Permasalahan**

Berdasarkan latar belakang dan untuk melengkapi kajian penelitian terdahulu terhadap *Garcinia tetranda* Pierre, maka dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi untuk mengetahui apakah dalam kayu batang tumbuhan *Garcinia tetranda* Pierre ini akan didapatkan senyawa-senyawa fenolat baru.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Penelitian ini bertujuan memperoleh senyawa-senyawa fenolat baru pada ekstrak metanol dari kayu batang tumbuhan *Garcinia tetranda* Pierre.

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI

#### 2.1 Tinjauan Famili Clusiaceae

Famili Clusiaceae adalah jenis tumbuhan semak yang mempunyai getah. Tumbuhan ini memiliki daun lebar yang selalu berhadap silang, tunggal dan tulang daun menyirip. Bunganya beraturan, berkelamin tunggal atau ganda. Letak susunan kelopak dan daun mahkotanya bervariasi antara dua sampai tujuh, serta mempunyai jumlah kelopak dan daun mahkota yang sama jumlahnya (Steenis, 1997).

Genus *Garcinia* merupakan salah satu anggota famili Clusiaceae yang banyak terdapat di daerah hutan hujan tropis di Asia Tenggara (Ampofo, 1986). Secara taksonomi, tumbuhan ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Heyne, 1987)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub kelas	: Archichlamydeae
Ordo	: Periales
Famili	: Clusiaceae
Genus	: <i>Garcinia</i>
Spesies	: <i>Garcinia sp.</i>

(Steenis, 1997 )

Pada umumnya *Garcinia* merupakan tumbuhan yang tidak terlalu besar dan seringkali ditemukan di bawah naungan pohon-pohon yang lebih besar. Kondisi *Garcinia* di hutan belum

sepenuhnya diketahui dan hanya sedikit informasi mengenai struktur atau bentuk pohonnya (Tahan Uji, 2007). Sebagian besar *Garcinia* berbentuk pohon besar, namun ada pula yang berbentuk pohon kecil (*shrub*) misalnya *G.livingstonei* Anders dan *G.spicata* Hook, masing-masing berasal dari Afrika tropis dan Srilanka (Sari, 2000).

Di Indonesia *Garcinia* dikenal sebagai tumbuhan kerabat manggis, sebagian besar masih tumbuh liar di hutan-hutan dan hanya lima jenis saja yang dilaporkan telah dibudidayakan yaitu *G.artroviridis* (gelugur), *G.dulcis* (mundu), *G.mangostana* (manggis), *G.nigrolineata* (kandis) dan *G. parviflora* (ceri). Selain itu beberapa jenis *Garcinia* dilaporkan sebagai tanaman peneduh di pinggir jalan, tanaman hias, reboisasi, dan sumber makanan bagi satwa liar (Tahan Uji, 2007).

## **2.2 Biosintesis Senyawa Fenolat Genus *Garcinia***

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada sebagian besar famili tumbuhan tingkat tinggi diantaranya adalah terpenoid, fenolat, alkaloid, lignin, tanin, saponin dll . Senyawa golongan fenolat merupakan senyawa yang banyak ditemukan di dalam tumbuhan famili Clusiaseae diantaranya flavonoid, benzofenon, santon, dan kumarin. Senyawa-senyawa tersebut terbentuk melalui jalur biogenesis baik jalur asam sikimat maupun asam asetat-malonat (Ersam, 2005) yang di tunjukan pada Gambar 2.1.



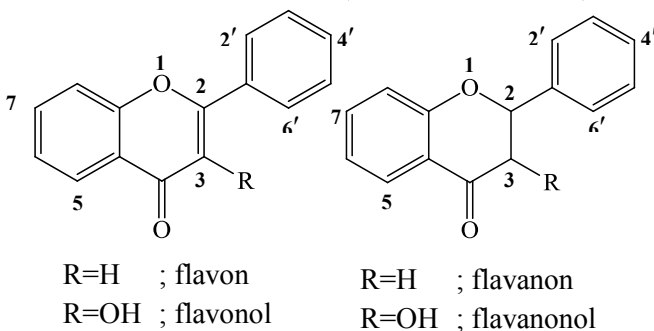
Sejauh ini, sudah banyak ditemukan senyawa fenolat dengan berbagai macam struktur hasil isolasi 90 spesies tumbuhan famili Clusiaceae. Pada genus *Garcinia* paling banyak ditemukan senyawa fenolat berupa senyawa santon yang di ambil dari batang, daun, akar, batang dan buah dari tumbuhan tersebut.

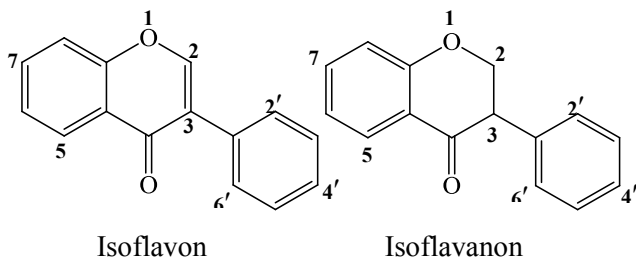
### 2.3 Tinjauan Botani *Garcinia tetranda* Pierre

*Garcinia tetranda* merupakan salah satu spesies tumbuhan dari genus *Garcinia*. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Puslit Biologi-LIPI Bogor (2007), spesies ini tersebar di daerah Sulawesi, Maluku dan NTT. Tinggi dari pohonya bisa mencapai 18 m, diameter batang 30 cm dan tajuk dari tumbuhan ini berbentuk segitiga. Persebaran habitat spesies ini pada ketinggian 1200 m dpl, bunga jantan dan mahkota berwarna merah maron, berlekatan dengan benang sari empat. Selain di lestarikan di Kebun Raya Bogor (Sari, 2000), tumbuhan ini juga dilestarikan di kawasan Taman Nasional Meru Betiri (TNMB) yang berada pada perbatasan Banyuwangi dengan Jember (Balai Taman Nasional Meru Betiri, 2002).

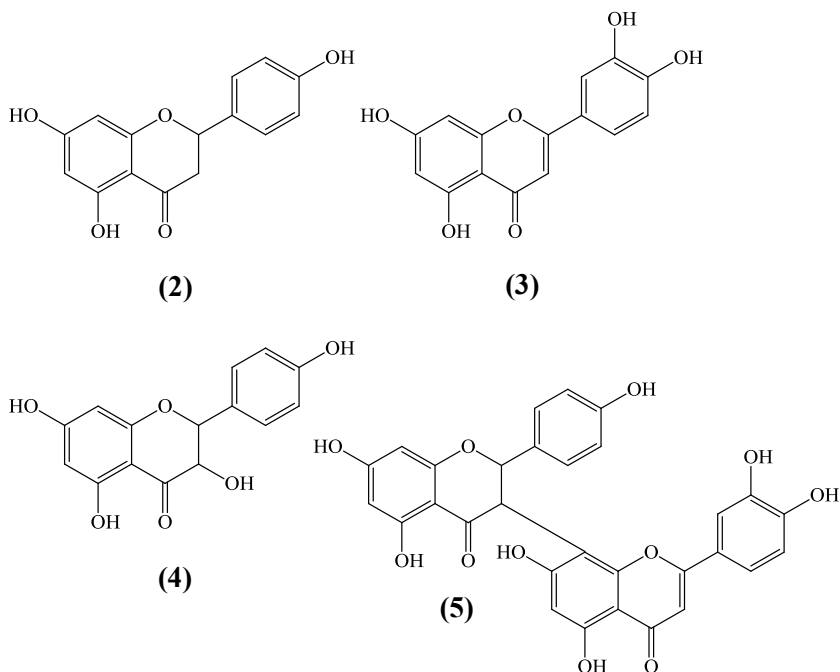
### 2.4 Tinjauan Senyawa Biflavonoid

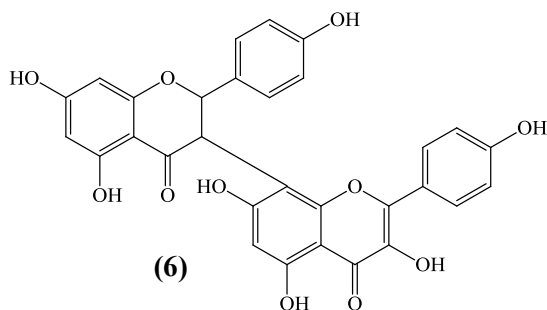
Senyawa Biflavonoid merupakan senyawa dimer dari monomer flavonoid (Tih, 2006), seperti flavon, flavonol, flavanon, isoflavon, isoflavanon (Wollenweber, 2003).



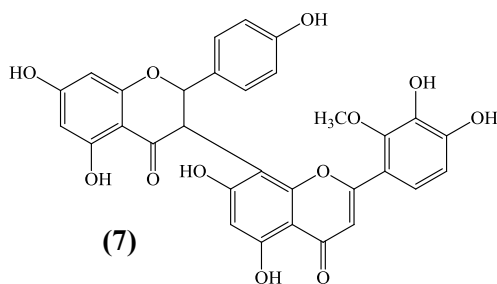


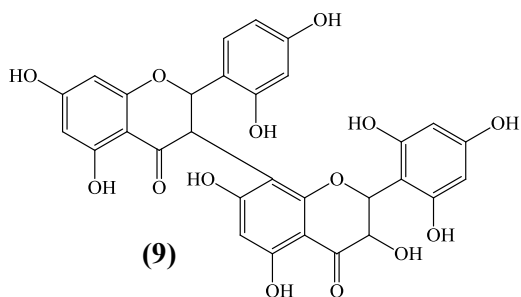
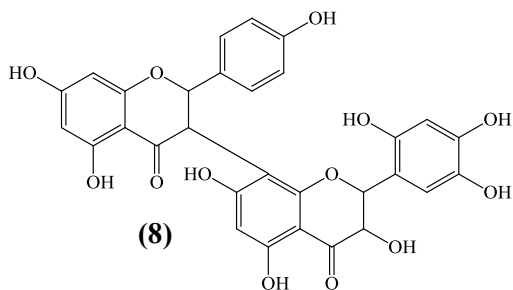
Senyawa biflavonoid yang diisolasi dalam tumbuhan *Garcinia* Diantaranya adalah morelloflavon **(5)**, senyawa ini merupakan gabungan dari naringenin **(2)** dan luteolin **(3)** yang diisolasi dari kulit batang *G.densivenia* (Waterman, 1980). Dari penelitian kabangu (1986) diisolasi Senyawa GB-1 **(6)** yang merupakan gabungan dari naringenin **(2)** dan aromadendrin **(4)**.



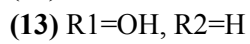
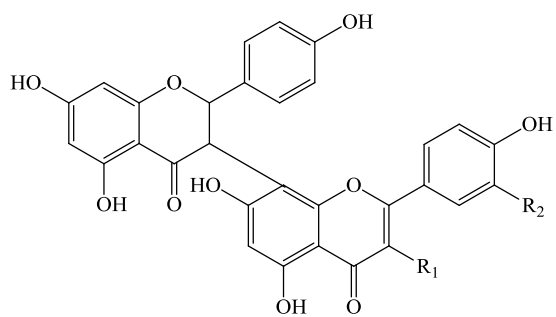
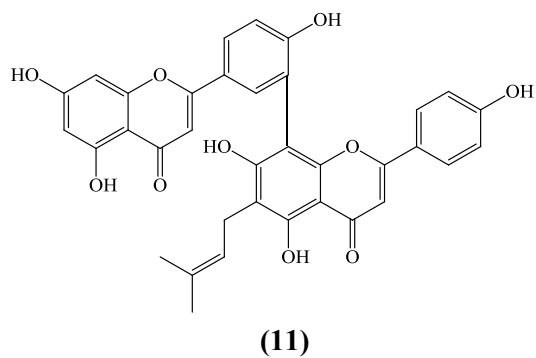
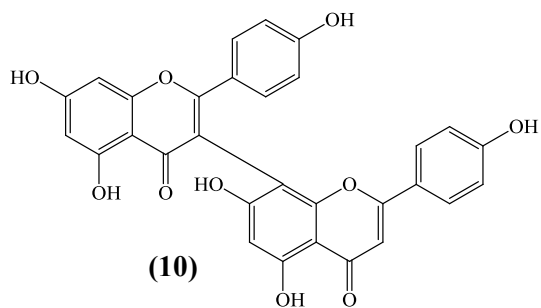


Senyawa biflavonoid juga berhasil diisolasi pada spesies *Garcinia tetranda* Pierre diantaranya senyawa GB-1 **(6)** dan 5,7,4',5'',7'',3''',4'''-heptahidroksi-2'''-metoksi flavanon-[3,8'']-flavon **(7)** yang diisolasi dari kulit batang *G.tetranda* Pierre (Novi, 2008) serta pada biji buah spesies *Garcinia picrorhiza* Miq didapatkan senyawa biflavonoid 5,7,4',3'',5'',7'',2''',4''',5'''-nonahidroksi-[3,8'']-biflavanon **(8)** dan 5,7,3'',5'',7'',2''',4''',6'''-dekahidroksi-[3,8'']-biflavanon **(9)** (Nurbariyah, 2009).





Senyawa biflavonoid juga ditemukan dari genus yang lain yaitu dari genus *Calophyllum*. Senyawa biflavonoid terprenilasi dapat ditemukan pada *C. venulosum* antara lain piranoamentoflavan-7,4'''-dimetileter (**11**) serta ditemukan juga amentoflavan (**10**) (Cao, 1997). Pada genus *C. panicflorum* telah didapat pancibiflavanol (**12**) dan garsinianin (**13**) (Ito, 1999).





## 2.5 Metode Ekstraksi

Ekstraksi yaitu suatu teknik pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kelarutan komponen zat terlarut dalam *like dissolve like* yang berdasarkan pada perbedaan kepolaran. Komponen atau senyawa yang bersifat polar dapat dipisahkan dari campuran menggunakan pelarut polar. Teknik ekstraksi dibedakan atas tiga metode, yaitu :

- Metode maserasi adalah teknik pemisahan komponen/senyawa dari bahan atau sampel menggunakan pelarut pada temperatur kamar. Kelebihan metode ini adalah prosesnya yang mudah dan tidak memakai banyak alat. Kekurangan dari metode ini adalah prosesnya yang membutuhkan waktu yang lama.
- Metode sokletasi adalah teknik pemisahan komponen dari bahan secara kontinu dengan menggunakan peralatan soklet yang memiliki cara kerjadengan melewatkan uap pelarut ke sampel. Pelarut pada labu atas bulat diuapkan dan mengalami kondensasi setelah sampai di kondensor, selanjutnya bersama ekstrak turun kembali ke dalam labu bundar. Kelebihan metode ini adalah prosesnya yang cepat dan efisien. Kekurangan dari metode ini adalah metode ini membutuhkan banyak peralatan.
- Metode perkolasi adalah metode ekstraksi dengan bahan yang sudah halus diekstraksi dalam pelarut panas yang dialirkan secara kontinu ke dalam suatu kolom yang berisi sampel. Kelebihan dari metode ini adalah metode ini mudah dilakukan dan tidak membutuhkan banyak alat. Kekurangannya adalah metode ini membutuhkan waktu untuk pemanasan pelarut serta membutuhkan pelarut yang banyak. (Pavia et al.,1990).

Proses ekstraksi dinyatakan selesai apabila ekstraksi terakhir memperlihatkan jumlah zat terlarut dalam jumlah yang relatif sedikit. Kemudian dilakukan uji menggunakan KLT atau spektrofotometer\_UV (Hismiatiy et al., 2011).

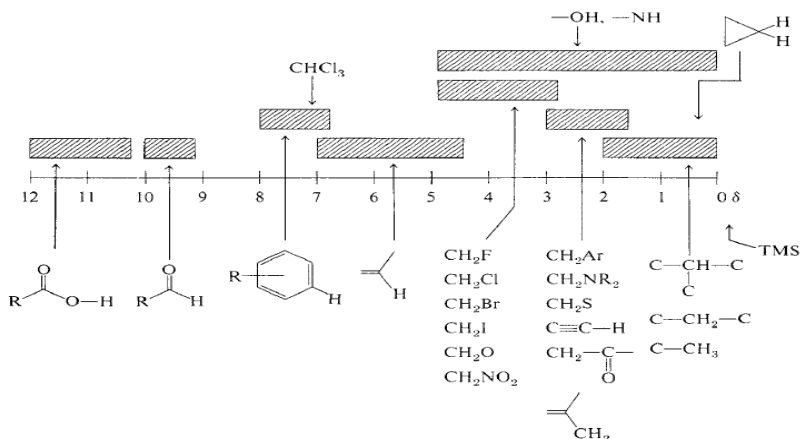
## 2.6 Karakterisasi

### 2.6.1. Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti

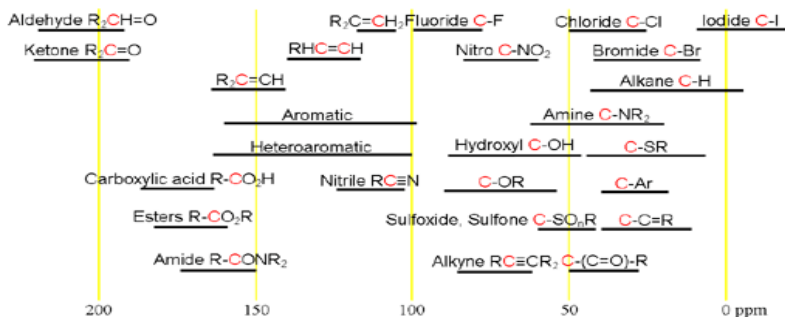
Spektroskopi resonansi magnetik inti (*nuclear magnetic resonance*, NMR) merupakan teknik pengukuran yang dapat digunakan untuk menentukan struktur senyawa organik berdasarkan medan magnet yang berasal dari spin inti senyawa (Rouessac, 2007). Spektroskopi NMR bekerja berdasarkan serapan gelombang radio oleh inti-inti senyawa dalam sebuah medan magnet yang kuat sehingga menyebabkan terjadinya fenomena resonansi. Hasil pengukuran spektroskopi NMR berupa nilai geseran kimia (*chemical shift*) (Hart *et al.*, 1997). Pergeseran kimia adalah perbedaan frekuensi absorpsi yang disebabkan oleh perbedaan letak proton (Solomon, 2010). Pergeseran kimia dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan letak gugus fungsi dalam struktur senyawa organik. Nilai pergeseran kimia dapat dinyatakan dalam besaran medan atau frekuensi dengan simbol  $\delta$  dalam satuan ppm dan bergantung pada lingkungan kimia suatu proton. Jenis pelarut dan adanya jembatan hidrogen mempengaruhi nilai  $\delta$  (Sastrohamidjojo, 2001).

Spektroskopi yang umum dikenal adalah  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR. Spektroskopi  $^1\text{H}$  NMR memberikan informasi berupa sinyal, pergeseran kimia, jumlah atom hidrogen, dan spin-spin proton tetangga (Hart *et al.*, 1997). Nilai pergeseran kimia  $^1\text{H}$ -NMR adalah 0-10 ppm (Hoffman, 2004). Spektroskopi  $^{13}\text{C}$ -NMR menyajikan data tentang struktur atom karbon dalam sebuah molekul organik, dan posisi dan jumlah atom karbon dalam suatu senyawa organik (Sudjadi, 1985). Spektrum  $^{13}\text{C}$ -NMR mempunyai nilai pergeseran kimia sebesar 0-190 ppm (Hoffman, 2004). Pengukuran spektroskopi NMR dilakukan menggunakan senyawa standar sebagai pembanding. Tetrametilsilan (TMS) merupakan senyawa yang sering digunakan sebagai pembanding karena bersifat inert, mudah menguap, larut dalam berbagai pelarut organik, dan karena protonnya dapat beresonansi pada medan magnet yang lebih

tinggi dari medan magnet resonansi senyawa organik lainnya (Silverstein, 1998).



Gambar 2.2 Pergeseran kimia dari  $^1\text{H}$  NMR.



Gambar 2.3 Pergeseran kimia dari  $^{13}\text{C}$ -NMR

### 2.6.2. Spektroskopi UV-Vis

Spektroskopi Ultra Violet (UV) merupakan metode analisis senyawa dengan menggunakan radiasi sinar UV dan berfungsi sebagai penentuan struktur secara kualitatif dari senyawa-senyawa yang mengandung gugus pengabsorpsi (Kromofor). Kromofor digunakan untuk menyatakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah ultra violet dan sinar tampak. Penyerapan radiasi dalam daerah-daerah ultra violet dan sinar tampak dapat terjadi karena adanya eksitasi molekul dari tingkat energi dasar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Lazimnya, eksitasi ini terjadi dalam daerah spektrum (sekitar 200 ke 900 nm) yang aman digunakan untuk eksperimen. Identifikasi senyawa organik dalam daerah ini jauh lebih terbatas daripada dalam daerah IR. Hal ini disebabkan karena pita serapan terlalu lebar dan kurang terperinci, tetapi gugus fungsional seperti karbonil, nitro, benar-benar menunjukkan puncak yang karakteristik (Underwood, 1998).

### 2.6.3. Spektroskopi IR

Spektroskopi infra merah adalah suatu metode spektroskopi yang digunakan untuk mengidentifikasi ada atau tidaknya gugus fungsi dan tipe ikatan tertentu suatu molekul. Metode ini didasarkan pada penyerapan atau absorpsi energi radiasi infra merah yang menyebabkan terjadinya vibrasi atau getaran. Vibrasi molekul yang terjadi tergantung pada kekuatan ikatan atau momen *dipole*. Molekul yang memiliki momen *dipole* yang berbeda akan bervibrasi pada frekuensi yang berbeda. Daerah penting pada pemeriksaan awal suatu spektrum IR adalah daerah  $4000\text{--}1300\text{ cm}^{-1}$ . Dalam daerah ini gugus-gugus fungsional yang penting seperti OH, C=O, C-C, C-N, dan N-H menunjukkan puncak yang khas dan letak puncak tersebut tidak berubah karena bentuk dan ukuran molekulnya. Identifikasi senyawa yang telah diketahui dengan cara menghubungkan

puncak yang khas absorbs vibrasi dari gugus fungsi tertentu dan menghubungkan puncak lain yang ada. Sedangkan identifikasi senyawa yang belum diketahui dilakukan dengan membandingkan

puncak-puncak yang terdapat pada spektrum data yang diperoleh dengan standar IR yang ada. Puncak serapan yang khas adalah misalnya C-H pada  $3300\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ , C=O pada  $1600\text{-}1900\text{ cm}^{-1}$ , OH pada  $3000\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ , N-H pada  $3000\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$  (Fessenden, 1986).

***“Halaman ini sengaja di kosongkan”***

## BAB III

### METODOLOGI PERCOBAAN

#### 3.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas seperti gelas ukur, labu erlenmeyer, labu ukur, gelas piala, pipet tetes, pipet volume, pengaduk kaca, kaca arloji, pipet kapiler, pinset, dan botol vial, seperangkat alat kromatografi kolom cair vakum (KCV), rotari evaporator vakum BUCHI, seperangkat alat kromatografi lapis tipis (KLT) dimonitoring dengan Sinar UV, seperangkat alat uji titik leleh Fisher-John, spektrofotometer FTIR dalam KBr Shimadzu, dan spektrometer NMR JEOL-ECA (400MHz untuk  $^1\text{H}$  dan 125MHz untuk  $^{13}\text{C}$ ),

#### 3.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kayu batang dari *Garcinia tetranda* Pierre yang diperoleh dari taman Nasional Meru Betiri yang telah dipindahkan ke Laboratorium Kimia Bahan Alam dan Sintesis Institut Teknologi Sepuluh nopember Surabaya, yang telah difraksinasi dan menggunakan fraksi 2e dari penelitian sebelumnya oleh Novi Sulistyaningrum pada tahun 2006. Silica gel 60 GF<sub>254</sub> untuk kromatografi kolom, aquades ( $\text{H}_2\text{O}$ ), *n*-heksana ( $\text{C}_6\text{H}_{12}$ ), metilen klorida ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), etil asetat ( $\text{EtOAc}$ ), metanol ( $\text{MeOH}$ ), kloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) Aseton dan serum sulfat 1,5%.

#### 3.3 Isolasi Senyawa Biflavonoid dari Kulit Batang *G.tetranda* Pierre

##### 3.3.1 Fraksinasi Fraksi 2e

Prosedur Penelitian yang digunakan adalah prosedur standar isolasi bahan alam dengan variasi kenaikan kepolaran pelarut. Fraksi 2e dimonitoring menggunakan KLT dengan eluen

*n*-heksana, metilen klorida, etil asetat, dan metanol untuk uji pendahuluan. Fraksi 2e difraksinasi dengan metode KCV menggunakan eluen *n*-heksana : EtOAc yang ditingkatkan kepolaranya mulai *n*-heksana 100%, *n*-heksana : EtOAc (80:20), (70:30), (60:40), (50:50) dan EtOAc 100% sehingga didapatkan fraksi-fraksi kemudian dimonitring menggunakan KLT. Fraksi yang memiliki Harga R<sub>f</sub> yang sama kemudian digabungkan menjadi satu fraksi setelah itu diuapkan pelarut menggunakan *rotary evaporator* .

### **3.3.2 Pemisahan dan Pemurnian Fraksi E**

Fraksi E yang berbentuk padatan amorf difraksinasi dengan metode KLTP dengan eluen kloroform : metanol (80:20). Kristal yang terbentuk di rekristalisasi dua kali menggunakan metode dua pelarut *n*-heksana dan etil asetat serta dilanjutkan aseton dan *n*-heksana. Diuji titik leleh dan dikarakterisasi menggunakan Spektroskopi UV-Vis, Spektroskopi IR dan Uji <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR beserta DEPT 135. Skema kerja dapat dilihat pada lampiran A.

### **3.3.3 Uji Kemurnian**

Uji kemurnian dapat dilakukan dengan melakukan uji tiga eluen. Dilakukan monitoring di atas plat KLT terhadap kristal yang diperoleh menggunakan tiga eluen yang berbeda kepolaranya. Selanjutnya kristal di uji kemurniannya menggunakan uji titik leleh. Sedikit kristal senyawa **(1)** diletakan diatas *object glass* yang diletakan pada plat titimleleh *Fisher john*. Suhu dinaikan secara perlahan-lahan sambil terus diamati perubahan yang terjadi pada kristal. Titik leleh diperoleh saat kristal mulai meleleh sampai meleleh sempurna dengan rentang suhu  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ .



### **3.3.4 Pengujian Spektrofotometer UV**

Kristal murni yang telah diperoleh diambil sebanyak 1 mg dan dilarutkan dalam 10 ml metanol. Larutan metanol-sampel dimasukkan dalam kuvet. Blanko yang digunakan adalah pelarut metanol. Dilakukan pengukuran terhadap panjang gelombang sampel dengan spektrofotometer UV pada  $\lambda$  200-400 nm dan dicatat  $\lambda_{\text{maks}}$  yang diserap dalam bentuk spektrum antara  $\lambda$  dan absorbansi.

Larutan sampel awal ditambah dengan 2-3 tetes larutan NaOH 2N kemudian dilakukan prosedur pengukuran panjang gelombang UV yang sama dan dicatat  $\lambda_{\text{maks}}$ . Dilakukan kembali  $\lambda_{\text{maks}}$  dengan menambahkan 2-3 tetes  $\text{AlCl}_3$  pada larutan sampel awal.

### **3.3.5 Pengujian spektrofotometer IR**

Kristal murni yang telah diperoleh diambil sebanyak 1 mg dan digerus dalam bubuk KBr sebanyak 10 mg dalam mortar hingga homogen. Campuran yang telah homogen dicetak hingga menjadi pellet. Pellet diletakan dalam sampel holder dan ditempatkan pada instrumen spektrofotometer IR kemudian diukur vibrasinya pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Data yang diperoleh adalah puncak puncak khas pada bilangan gelombang tertentu.

### **3.3.6 Pengujian spektrofotometer NMR**

Kristal murni yang telah diperoleh diambil sebanyak 15 mg, kemudian dilarutkan dalam 0,5 ml pelarut bebas proton  $\text{CD}_3\text{OD}$ . Larutan sampel dimasukkan dalam tabung injeksi kemudian di letakan dalam alat uji  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR.

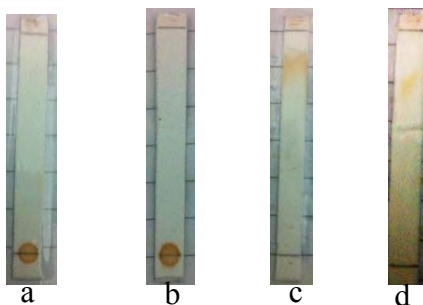
***“Halaman ini sengaja di kosongkan”***

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Uji Pendahuluan

Sampel yang didapat adalah fraksi 2e dari ekstrak metanol kayu batang tumbuhan *Garcinia tetranda* Pierre yang telah difraksinasi pada penelitian sebelumnya sebesar 3,009 gram. Sebelum proses fraksinasi terlebih dahulu melihat pola noda dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Eluen yang digunakan adalah eluen tunggal yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda yaitu 100% *n*-heksana, 100% metilen klorida, 100% etil asetat dan 100% metanol. Dengan demikian terlihat pola noda dan dilanjutkan dengan pemilihan eluen untuk proses fraksinasi terhadap fraksi 2e dengan prinsip *increasing polarity*. Berikut Gambar monitoring KLT dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kromatogram Uji Pendahuluan yang di elusi dengan  
a) *n*-heksana 100%, b) Metilen klorida 100%, c) Etil Asetat  
100% dan d) Metanol 100%

Uji pendahuluan ini dilakukan untuk mengetahui eluen yang baik untuk pemisahan, sehingga untuk fraksinasi dipilih eluen *n*-heksana yang dinaikan kepolaranya menggunakan eluen etil asetat. Hal-hal yang paling berperan dalam keberhasilan

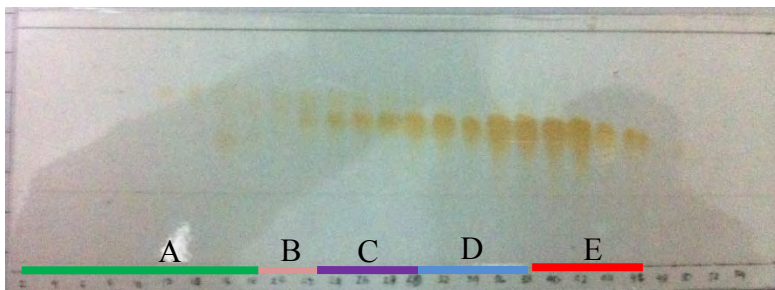
pemisahan menggunakan kromatografi kolom adalah pada pemilihan eluen.

#### 4.2 Fraksinasi Fraksi 2e *Garcinia tetranda* Pierre

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode Kromatografi Cair Vakum (KCV) dengan eluen yang dipilih ialah 100% *n*-heksana, *n*-heksana : etil asetat (100:0), (80:20), (70:30), (60:40), (50:50) dan etil asetat 100%. Kolom pada Kromatografi Cair Vakum dikemas kering karena kerapatan adsorben memberikan kinerja yang optimum. Keunggulan dari metode KCV ini adalah prosesnya yang membutuhkan waktu yang relatif cepat serta dapat memisahkan senyawa-senyawa target ke dalam fraksi-fraksi yang sederhana dengan jumlah sampel yang dipisahkan lebih banyak. Dari proses kromatografi yang dilakukan di elusi dengan seluen yang ditingkatkan kepolaranya secara bertahap dilakukan pemantauan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan penampak noda larutan Serium Sulfat ( $\text{CeSO}_4$ ). Hasil fraksinasi dengan KCV dihasilkan 46 vial yang masing masing volumenya 100 ml, selanjutnya dimonitoring menggunakan kromatogram KLT seperti pada Gambar 4.2. Berdasarkan sebaran noda dan harga  $R_f$  yang sama dikelompokan dan dihasilkan lima kelompok fraksi gabungan (A-E) yang dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4. 1 Pengelompokan fraksi hasil pemisahan KCV 1

Fraksi	No. Vial	Massa (gram)
A	1-18	0,123
B	19-22	0,099
C	23-30	0,334
D	31-38	1,450
E	39-46	1,001



Gambar 4.2 Kromatogram pemisahan KCV I yang dielusi dengan kloroform : metanol (80:20)

Setelah dikelompokkan berdasarkan nilai  $R_f$  dan pola noda yang sama selanjutnya masing-masing fraksi gabungan di monitoring menggunakan KLT dengan eluen kloroform : metanol (80:20) yang ditunjukan pada Gambar 4.3



Gambar 4.3 Kromatogram fraksi gabungan pemisahan KCV I

Ditinjau dari hasil Kromatogram fraksi gabungan maka dipilih fraksi gabungan E atau selanjutnya disebut fraksi E dan dilanjutkan untuk proses pemurnian.

### 4.3 Proses Pemurnian dan Uji Kemurnian Kristal

Kontaminasi pengotor pada senyawa bahan alam yang berbentuk padat hasil isolasi dari suatu tanaman sering terjadi meski terkadang hanya dalam jumlah yang relatif kecil. Untuk memurnikan dan memisahkan kristal dari pengotor-pengotornya dilakukan proses rekristalisasi dengan pelarut yang sukar melarutkan kristal dengan baik. Fraksi E pada monitoring kromatografi lapis tipis menunjukkan noda yang sederhana serta noda cenderung tunggal dan dominan akan tetapi masih terdapat pengotor berupa ekor di bawah noda (*tailing*). Sebelum dilakukan rekristalisasi dilakukan uji kelarutan pada sampel agar dapat menentukan pelarut yang dipakai pada saat rekristalisasi. Berikut adalah hasil uji kelarutan yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4. 2 Hasil Uji Kelarutan

Eluen	Panas	Normal	Dingin
Heksana	Tidak larut	Tidak larut	Tidak larut
Metilen Klorida	Tidak larut	Tidak larut	Tidak larut
Kloroform	Tidak larut	Tidak larut	Tidak larut
Aseton	Larut	Larut	Larut
Etil asetat	Larut	Larut	Larut
Metanol	Larut	Larut	Larut

Ditinjau dari hasil uji kelarutan maka prinsip rekristalisasi yang digunakan adalah rekristalisasi menggunakan dua sistem pelarut. Rekristalisasi menggunakan satu sistem pelarut membutuhkan pelarut yang bisa melarutkan sampel pada keadaan panas dan pada keadaan dingin tidak melarutkan (Alfinda, 2008).

Dipilih pelarut *n*-heksana dan etil asetat karena *n*-heksana tidak melarutkan dan etil asetat melarutkan. Setelah dilakukan rekristalisasi maka didapatkan padatan amorf berwarna kuning dan dilakukan monitoring kromatografi lapis tipis dengan eluen kloroform : metanol (80:20) yang terlihat pada Gambar 4.4.



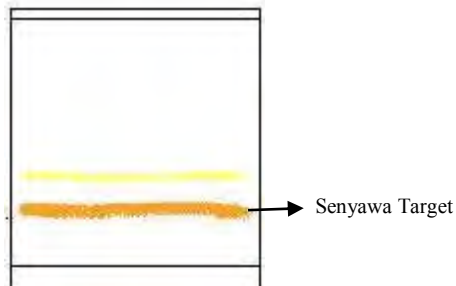
Gambar 4.4 Kromatogram KLT dengan eluen kloroform : metanol (80:20) hasil rekristalisasi dengan pelarut *n*-heksana dan etil asetat

Berdasarkan Gambar 4.4 kromatogram masih terdapat pengotor berupa noda tipis ekor (*tailing*) dibawah noda dominan dan masih ada noda bulat tipis diatas noda dominan maka dilakukan rekristalisasi lanjutan dengan pelarut aseton dan *n*-heksana. Berikut adalah gambar kromatogram hasil rekristalisasi dengan eluen kloroform : metanol (80:20) yang ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Kromatogram KLT dengan eluen kloroform : metanol (80:20) hasil rekristalisasi dengan pelarut *n*-heksana dan aseton

Berdasarkan pada Gambar 4.5 sudah tidak ada noda yang mengekor akan tetapi masih terdapat noda pengotor diatas noda dominan dengan jarak antara kedua noda dekat maka difraksinasi menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP) dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (80:20) yang ditunjukkan pada Gambar 4.6.



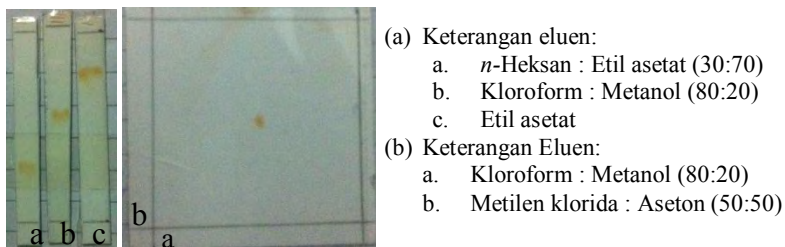
Gambar 4.6 Kromatogram KLTP

Hasil fraksinasi menggunakan metode KLTP didapatkan padatan *amorf* berwarna kuning dengan berat 25 mg yang kemudian



dicuci menggunakan metilen klorida dan selanjutnya dilakukan uji titik leleh untuk mengetahui kemurnian dari senyawa. Senyawa yang telah murni memiliki rentang suhu dari mulai meleleh sampai meleleh seluruhnya yaitu  $\pm 1$  °C. Senyawa **(1)** memiliki titik leleh sebesar 231-232 °C.

Senyawa telah murni juga dapat dilihat dari profil noda tunggal pada uji tiga campuran eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda dan uji KLT dua dimensi. Fungsi dari uji tiga eluen dan uji KLT 2 dimensi dapat mengetahui ada atau tidaknya pengotor pada senyawa tersebut. Uji tiga eluen menghasilkan nilai  $R_f$  yang berbeda sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.7 untuk senyawa **1**.



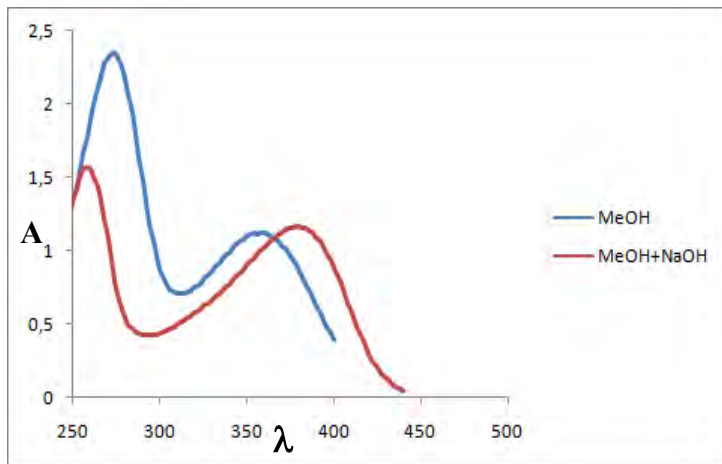
Gambar 4.7 Kromatogram KLT uji kemurnian senyawa 1

Ditinjau dari uji titik leleh, uji tiga campuran eluen dan uji KLT dua dimensi dapat dikatakan bahwa senyawa **(1)** merupakan senyawa yang murni.

#### 4.4 Elusidasi Struktur

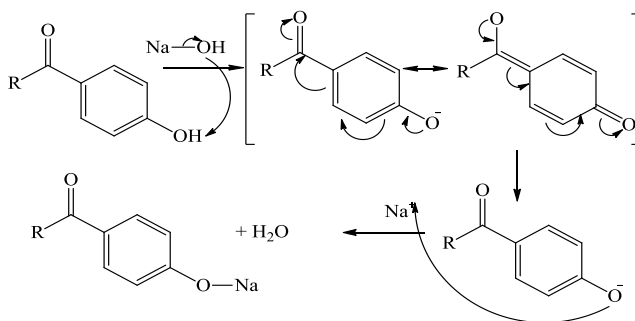
Pengukuran menggunakan spektroskopi UV senyawa **(1)** menghasilkan spektrum dengan panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) sebagai berikut:  $\lambda_{\text{maks}}$  (MeOH) 274 nm dan 351 nm,  $\lambda_{\text{maks}}$  (MeOH+NaOH) 260 nm dan 380 nm,  $\lambda_{\text{maks}}$  (MeOH+AlCl<sub>3</sub>) 260 nm dan 312 nm. Serapan pada  $\lambda_{\text{maks}}$  (MeOH) 274 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari  $\pi$ - $\pi^*$  merupakan kromofor yang khas pada sistem ikatan rangkap terkonjugasi dari cincin aromatik (-C=C-C=C-). Serapan pada daerah 351 nm menunjukkan adanya eksitasi elektron dari  $n$ - $\pi^*$  suatu heteroatom yang terkonjugasi

dengan sistem ikatan rangkap aromatic ( $-C=C-C=O$ ) (Nilar et al, 2005). pergeseran spektra dapat dilihat pada Gambar 4.8.



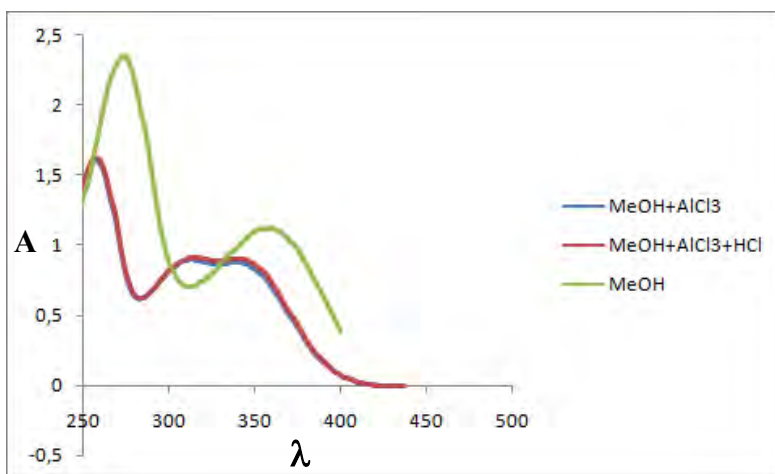
Gambar 4.8 Spektra UV Senyawa 1 dalam MeOH dan MeOH+NaOH

Penambahan basa NaOH menyebabkan pergeseran batokromik karena adanya perpanjangan konjugasi dari kesetimbangan keto-enol yang menunjukkan bahwa senyawa (**1**) tergolong dalam golongan senyawa fenolat (Ito, 1997). Konjugasi kesetimbangan keto-enol dapat dilihat pada Gambar 4.9.



Gambar 4.9 Ksetimbangan keto-enol dengan NaOH

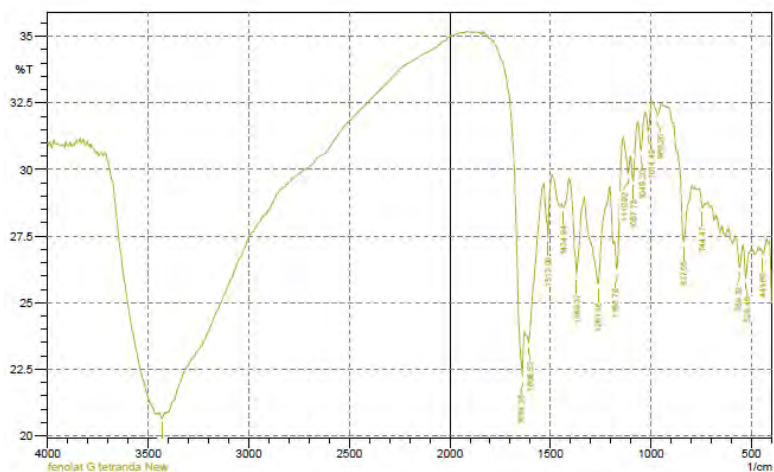
Keberadaan gugus karbonil yang bertetangga dengan gugus hidroksi serta gugus *o*-dihidroksi dapat diketahui dengan cara penambahan pereaksi  $\text{AlCl}_3/\text{HCl}$ . Peluang adanya kedua gugus tersebut ditandai dari pergeseran batokromik setelah ditambah  $\text{AlCl}_3$  yang ditimbulkan oleh terbentuknya kompleks tahan asam antara  $\text{AlCl}_3$  dan gugus karbonil yang bertetangga dan kompleks tidak tahan asam antara  $\text{AlCl}_3$  dengan gugus *o*-dihidroksi (Sulistyaningrum, 2008). Dapat dilihat pada Gambar 4.10 tidak terjadi pergeseran pada saat penambahan HCl yang mengindikasikan bahwa tidak terdapat sistem 3'4'-orto dihidroksi pada senyawa (**1**).



Gambar 4.10 Spektra UV Senyawa 1 dalam MeOH, MeOH+ $\text{AlCl}_3$  dan MeOH+ $\text{AlCl}_3$ +HCl

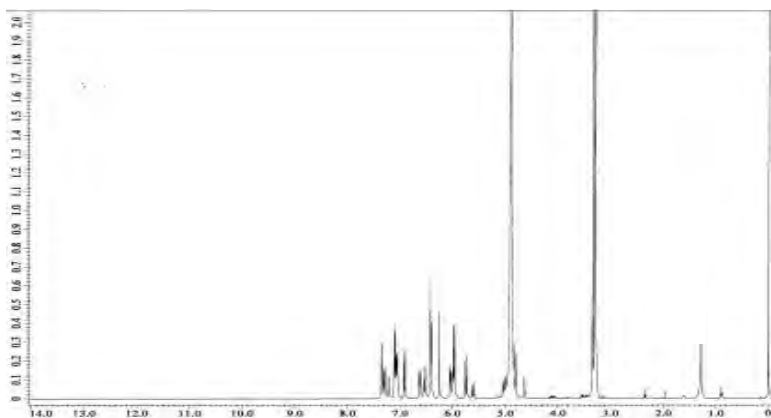
Analisis berikutnya menggunakan spektroskopi inframerah (IR) (KBr) yang dapat dilihat pada Gambar 4.11. Pada bilangan gelombang  $500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$  memperlihatkan pita-pita serapan yang khas pada bilangan-bilangan gelombang ( $\nu_{\text{max}}$ ) tertentu. Serapan pada bilangan gelombang  $3423\text{ cm}^{-1}$  (melebar) menunjukan ciri khas dari gugus hidroksi bebas ( $-\text{OH}$  bebas) yang

diperkuat serapan C-O pada bilangan gelombang 1261  $\text{cm}^{-1}$  dan 1168  $\text{cm}^{-1}$  (Rukachaisirikul, 2002), serapan dengan bilangan gelombang 1630  $\text{cm}^{-1}$  menunjukkan ciri khas dari gugus karbonil terkhelat (C=O), serta serapan dari bilangan 1606  $\text{cm}^{-1}$  dan 1512  $\text{cm}^{-1}$  merupakan ciri khas dari ikatan rangkap pada cincin aromatik. Ditinjau dari hasil analisa spektrum UV senyawa (1) memperlihatkan serapan pita II (260-290 nm) dan pita I (330-360 nm) dengan absorbansi pita I lebih rendah dan spektra IR, dapat diketahui bahwa senyawa (**1**) merupakan senyawa turunan flavonoid dengan memiliki gugus hidroksi (Ilic *et al.* 2004).



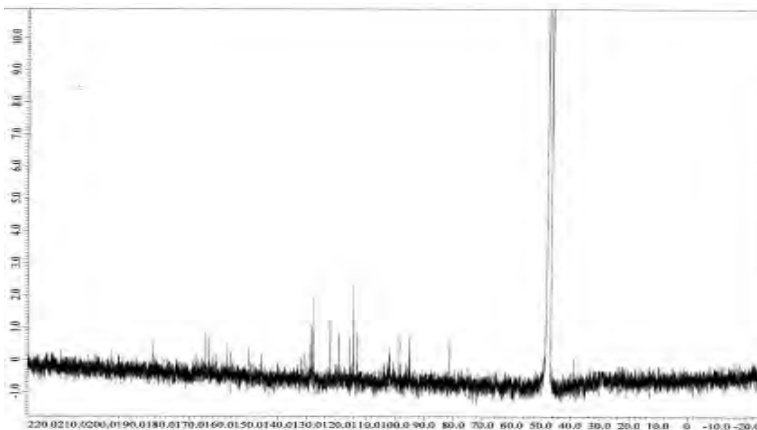
Gambar 4.11 Spektra IR senyawa 1 dalam plat KBr

Langkah selanjutnya untuk mendukung hipotesis struktur senyawa (**1**) yaitu dengan melakukan pengukuran  $^1\text{H-NMR}$  dan  $^{13}\text{C-NMR}$  yang dapat dilihat pada Gambar 4.12 dan Gambar 4.13.



Gambar 4.12 Spektre  $^1\text{H}$ -NMR dengan pelarut metanol

Analisis spektrum  $^1\text{H}$ -NMR terdapat beberapa kelompok proton yaitu pada  $\delta_{\text{H}}$  (ppm) 5,60 dan 4,79 (masing-masing 1H, d,  $J= 12$  Hz) dan 5,7 (2H, d,  $J= 11,98$ ) merupakan 2 kelompok proton alifatik tipe AB yang merupakan ciri khas H-2 dan H-3 dari flavanon (Tih et al, 2006) yang tersubstitusi pada C-3 (Waterman, 1980). Pada  $\delta_{\text{H}}$  7,27 dan 6,89 (masing-masing 2H, d,  $J= 8$  Hz) merupakan kelompok proton aromatik tipe AA'BB' dimana proton-proton tersebut terbagi atas dua lingkungan kimia akibat *p*-disubstitusi (Cao, 1997). Pada  $\delta_{\text{H}}$  6,22 (2H,s) dan 5,9 (1H,s) merupakan kelompok proton aromatis yang terisolasi. Pada  $\delta_{\text{H}}$  7,19 (1H, d,  $J= 11,78$  Hz); 6,5 (1H, dd,  $J= 11,78$  Hz,  $J= 7,2$  Hz) dan 6,6 (1H, d,  $J= 7,2$  Hz) merupakan kelompok proton dengan sistem ABX. Pada pengukuran spektroskopi  $^{13}\text{C}$ -NMR menunjukan bahwa terdapat minimal terdapat 30 atom karbon. Karbon pada  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) 196,50 dan 182,51 merupakan pergeseran khas untuk karbon karbonil (Wolenweber, 2003), terdapat 14 karbon metin pada  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) 81,3; 38,8; 95,1; 97,0; 129,1; 115,5; 114,2; 128,5; 81,3; 82,5; 98,5; 112,1; 114,8; dan 127,9, serta terdapat 14 karbon quartener pada  $\delta_{\text{C}}$  (ppm) 101,9; 157,2; 161,2; 163,5; 131,9; 156,0; 182,5; 102,0; 161,2; 164,4; 103,6; 145,2; 122,0; 129,1; dan 149,1.

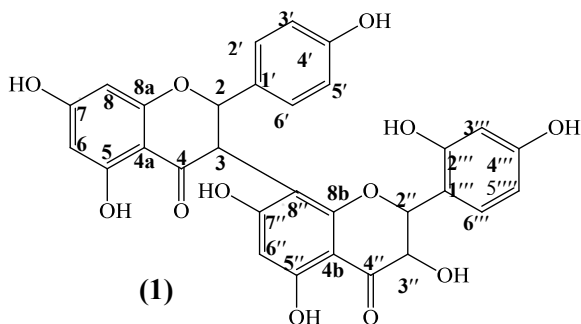
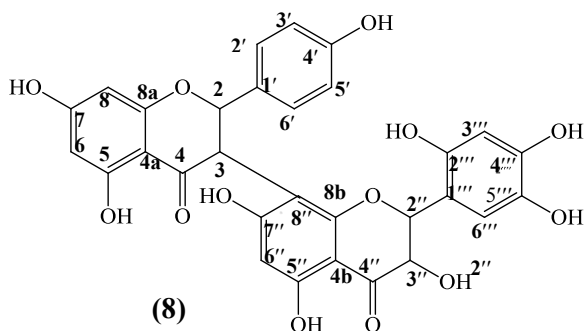


Gambar 4.13 Spektra  $^{13}\text{C}$ -NMR dengan pelarut metanol

Berdasarkan hasil uji spektra  $^1\text{H}$ -NMR dan  $^{13}\text{C}$ -NMR maka dapat disarankan senyawa **(1)** merupakan senyawa biflavonoid dengan memiliki 30 atom karbon. Senyawa **(1)** memiliki peluang kemiripan struktur dengan senyawa diantaranya **(5)**, **(6)**, **(7)**, **(8)**, **(9)**, **(10)**, **(12)**, **(13)** dan senyawa **(11)** tanpa tersubstitusi oleh gugus prenil, selanjutnya dibandingkan pergeseran kimia proton ( $^1\text{H}$ -NMR) dan karbon ( $^{13}\text{C}$ -NMR) senyawa **(1)** senyawa-senyawa tersebut. Berdasarkan pebandingan  $\delta_{\text{H}}$   $^1\text{H}$ -NMR dan  $\delta_{\text{C}}$   $^{13}\text{C}$ -NMR diketahui bahwa senyawa **(1)** memiliki kemiripan dengan senyawa **(8)** yang dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4. 3 Perbandingan  $\delta\text{H}$  dan  $\delta\text{C}$  Senyawa **(1)** dan **(8)**

No.	Senyawa Hasil Isolasi <b>(1)</b>		Senyawa Pembanding <b>(8)</b>	
	$^1\text{H-NMR } \delta_{\text{H}}$	$^{13}\text{C-NMR } \delta_{\text{C}}$	$^1\text{H-NMR } \delta_{\text{H}}$	$^{13}\text{C-NMR } \delta_{\text{C}}$
2	5,6 (1H, d, J=12 Hz)	81,3	5,50 (1H, d, J=11 Hz)	80,2
3	4,79 (1H, d, J=12 Hz)	38,8	4,71 (1H, d, J= 11 Hz)	48,8
4		196,5		197,8
4a		101,9		100,8
5		157,2	12,36 (1H, s, OH)	164,3
6	6,22 (2H, s)	95,1	5,85(2H, s)	95,8
7		161,2		166,9
8	6,22 (2H, s)	97,0	5,85 (2H, s)	95,8
8a		163,5		162,1
1'		131,9		129,9
2'	7,27 (2H, d, J=8)	129,1	7,22 (2H, d, J=6,1Hz)	129,9
3'	6,89 (2H, d, J=8)	115,5	6,81 (2H, d, J=6,1 Hz)	115,7
4'		156,0		158,5
5'	6,89 (2H, d, J=8)	114,2	6,81 (2H, d, J=6,1 Hz)	115,1
6'	7,27 (2H, d, J=8)	128,5	7,22(2H, d, J=6,1 Hz)	129,9
2''	5,70 (2H, d, J=11,98)	81,3	5,33 (1H, d, J=12 Hz)	80,2
3''	5,70 (2H, d, J=11,98)	82,5	4,85 (1H, d, J=12 Hz)	70,7
4''		182,5	5,96 (1H, s, OH)	197,3
4b		102,0		97,0
5''		161,2	12,19 (1H, s, OH)	165,5
6''	5,90 (1H, s)	98,5	5,92 (1H, s)	97,0
7''		164,4		166,2
8''		103,6		102,9
8b		145,2		155,2
1'''		122,0		126,5
2'''		129,1		123,9
3'''	7,19 (1H, d, J= 11,78)	112,1	6,73 (1H, s)	115,7
4'''		149,1		151,9
5'''	6,50 (1H, dd, J=7,2,J=11,78 Hz)	114,8		116,1
6'''	6,60 (1H, d, J=7,2 Hz)	127,9	6,84 (1H, s)	123,1

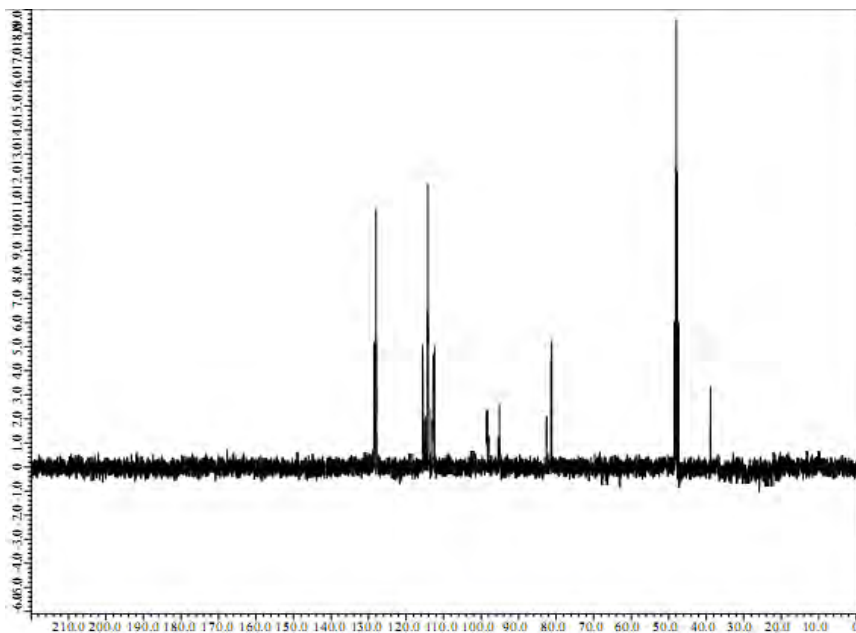


Ditinjau dari hasil data perbandingan  $\delta_H$   $^1\text{H-NMR}$  dan  $\delta_C$   $^{13}\text{C-NMR}$  dapat dinyatakan bahwa senyawa (1) sangat identik dengan senyawa (8) hanya terdapat perbedaan pada C-5''' senyawa (1) tidak tersubstitusi gugus hidroksi sedangkan senyawa (8) tersubstitusi gugus hidroksi. Hasil ini juga diperkuat dengan hasil Uji DEPT 135 yang ditunjukkan pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.14 dimana terdapat 14 gugus metin (CH) serta tidak ada gugus metilen ( $\text{CH}_2$ ) dan metil ( $\text{CH}_3$ ). Data DEPT 135 menunjukkan Gugus-gugus metin terdistribusi pada pergeseran kimia  $^{13}\text{C-NMR}$  81,31; 38,81; 95,10; 97,05; 129,17; 115,54; 114,19; 128,49; 81,31; 82,46; 98,55; 112,15; 114,87; dan 127,92 yang menguatkan data spektra  $^1\text{H-NMR}$   $^{13}\text{C-NMR}$  bahwa pada posisi tersebut karbon tidak tersubstitusi.



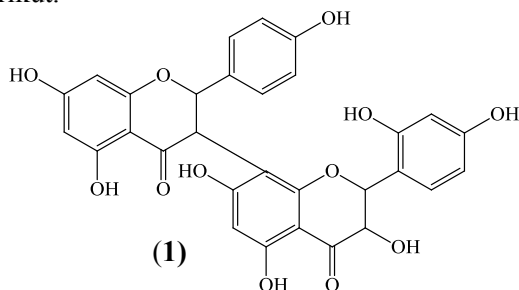
Tabel 4. 4 Hasil Uji DEPT 135

No	$^1\text{H-NMR}$ ( $\delta_{\text{H}}$ ) (Senyawa 1)	$^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta_{\text{C}}$ ) (Senyawa 1)	DEPT
2	5,6 (1H, d, J=12 Hz)	81,31	CH
3	4,79 (1H, d, J=12 Hz)	38,81	CH
4		196,50	
4a		101,96	
5		157,23	
6	6,22 (2H, s)	95,10	CH
7		161,23	
8	6,22 (2H, s)	97,05	CH
8a		163,52	
1'		131,99	
2'	7,27 (2H, d, J=8)	129,17	CH
3'	6,89 (2H, d, J=8)	115,54	CH
4'		156,07	
5'	6,89 (2H, d, J=8)	114,19	CH
6'	7,27 (2H, d, J=8)	128,49	CH
2''	5,7 (2H, d, J=11,98)	81,31	CH
3''	5,7 (2H, d, J=11,98)	82,46	CH
4''		182,51	
4b		102,02	
5''		161,23	
6''	5,9 (1H, s)	98,55	CH
7''		164,44	
8''		103,69	
8b		145,23	
1'''		122,05	
2'''		129,17	
3'''	7,19 (1H, d, J= 11,98 Hz)	112,15	CH
4'''		149,17	
5'''	6,5 (1H, d, J=7,2 Hz, J=11,78 Hz)	114,87	CH
6'''	6,6 (1H, d, J=7,2 Hz)	127,92	CH



Gambar 4.14 Spektra DEPT 135

Berdasarkan data UV, IR,  $^1\text{H-NMR}$ ,  $^{13}\text{C-NMR}$  dan DEPT 135, maka senyawa **(1)** merupakan senyawa 5, 7, 4', 3'', 5'', 7'', 2''',4''' – heptahidroksi- [3,8'']- biflavanon dengan struktur sebagai berikut.



## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Fraksi 2e dari ekstrak metanol kayu batang *Garcinia tetrandia* Pierre menghasilkan senyawa biflavonoid yaitu 5,7,4',3'',5'',7'',2''',4''' – heptahidroksi- [3,8'']- biflavanon yang belum dilaporkan pada penelitian sebelumnya.

#### **5.2 Saran**

Penelitian ini harus dilanjutkan dengan melakukan uji bioktivitas seperti uji antioksidan serta uji antibakteri terhadap bakteri Gram positif dan di isolasi lebih lanjut karena masih terdapat peluang untuk mengisolasi senyawa fenolat yang lain.

***“Halaman ini sengaja di kosongkan”***

## DAFTAR PUSTAKA

- Alfinda, N. K. (2008). *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Ampofo, S.A., Waterman, P.G. (1986). "Xanthones from Three *Garcinia* Species". *Phytochemistry*. **25**. 2351-2355.
- Balai Taman Nasional Meru Betiri. (2002). *Laporan Identifikasi dan Inventarisasi Taman Obat di Taman Nasional Meru Betiri*. Departemen Kehutanan Dirjen Perlindungan Hutan dan Konservasi Alam Taman Nasional Meru Betiri. Jember.
- Cao, S.G., Sim, K.Y., Goh, S.H. (1997). "Biflavonoids of *Calophyllum venulosum*". *Journal of National Product*. **60**. 1245-1250.
- Carey, F.A., (2000). *Organic Chemistry*. Boston: The McGraw Hill Companies, Inc.
- Ersam T. (2004). "Keunggulan Biodeversitas Hutan Tropika Indonesia Dalam Merekayasa Model Molekul Alami". *Seminar Nasional Kimia VI*.
- Ersam T. (2005) "Pemberdayaan Keanekaragaman Hayati Hutan Tropika: Fenolat Terprenilasi dari *Artocarpus* dan *Garcinia* (Nangka dan Manggis)". *Prosiding Seminar Nasional Kimia, Universitas Negeri Surabaya*, 22–23.
- Fessenden, R. A. (1999). *Kimia Organik edisi ke-3*. Jakarta: Erlangga.

- Hart, H. H. (1997). *Organic Chemistry A short Course*. New Delhi: S. Chand and Company Ltd.
- Hoffman, R., (2004), *Organic Chemistry*. New Jersey: John Willey and Sons Inc.
- Heyne. K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid 3. Departemen Kehutanan. Jakarta
- Hismiati .B., Swasmi .P., Endah P. (2011). Perbandingan metode maserasi, remaserasi, perkolasi, reperi kolasi dalam pembuatan ekstrak pegagan. *Simnas Perhipba XV*. Laptiab Gdg. 611 Serpong: Pusat Teknologi Farmasi dan Medika (BPPT).
- Ito, C., Itoigawa, M., Miyamoto, Y., Rao, K.S., Takayasu, J., Okuda, Y., Mukainaka, T., Tokuda, H., Nishino, H., Furukawa, H. (1999). "A New Biflavonoid from *Calophyllum paniculatum* with Antitumor-Promoting Activity". *Journal of Natural Product*. **12**. 1668-1671.
- Mahabusarakam W., Nuangnaowarat W. and Taylor W. C. (2006) "Xanthone derivatives from *Cratoxylum cochinchinense* roots". *Phytochemistry* **67**, 470–474.
- Mahabusarakam W., Rattanaburi S., Phongpaichit S. and Kanjana-Opas A. (2008). "Antibacterial and cytotoxic xanthenes from *Cratoxylum cochinchinense*". *Phytochemistry letters*. **1**, 211–214.
- Nilar, Nguyen, L.D., Venkataraman, G., Sim K., Harrison L.J. (2005). Xanthenes and Benzophenones from *Garcinia griffithii* and *Garcinia mangostana*. *Phytochemistry*. **66**. 1718-1723.

- Nurbariyah. (2009). “Biflavonoid dari Biji Buah *Garcinia picrorhiza* Miq : Isolasi, Penentuan Struktur, dan Uji Antimalaria”. Tesis Magister. Kimia ITS. Surabaya.
- Pavia D.L., Lampman. G.M., Knitz. G.S. (1990). *Introduction to organic laboratory techniques a conteporery approach. second edition*. New York: Sainders Colleege Publishing.
- Peres, V., Nagem, T.J. (1996). “Trioxxygenated Naturally Occuring Xanthoness”. *Phytochemistry*. **44**. 191-214.
- Purwaningsih, Y. (2006). “Dua Senyawa Santon Sebagai Antioksidan dari Kayu Batang *Garcinia tetranda* Pierre”. Tesis Magister. Kimia ITS. Surabaya.
- Pham H. H. (2006). *Vietnamese medicinal plants*. Ho Chi Minh City: Youth Publishing House.
- Rouessac, F. A. (2007). *Chemical Analysis Modern Instrumentation Method and Technique*. Hoboken: John willey and sons ltd.
- Rukachaisirikul, V., Kamkaew, N., Sukavisit, D., Phongpaichit, S., Sawangchote, P., & Taylor, W. C. (2003a). Antibacterial xanthoness from the stem bark of *Garcinia nigrolineata*. *Journal of Natural Product*. **64**. 1131-1535.
- Sari, R., Hanan, A. (2000). “*Garcinia* (Clusiaceaea) di Kebun Raya Bogor Fisiognomi, Keragaman dan potensi”. *Prosiding Seminar Hari Cipta Puspa dan Satwa Nasional*. Kebun Raya Bogor. Bogor.
- SastroHamidjojo. (1991). *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.

- Silverstein, R. A. (1998). *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. New York: John Willey and Sons, Inc.
- Solomon, G. (2010). *Organic Chemistry*. Hoboken: John Willey and Sons Ltd.
- Sudjadi. (1985). *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Jakarta: Ghalia Indonesia.
- Steenis (1997) *Flora*. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Sultanbawa M. U. S. (1980) "Xanthonoids of Tropical Plants". *Tetrahedron* **36**, 1465–1506.
- Sulistyaningrum, N., (2008), "Biflavonoid dari Kayu Batang *Garcinia tetranda* Pierre : Isolasi, Penentuan Struktur dan Uji Antibakteri, Tesis Magister, Kimia ITS, Surabaya.
- Tahan Uji, (2007), "Keanekaragaman, Persebaran dan Potensi Jenis-Jenis *Garcinia* di Indonesia", *Berkas Penelitian Hayati*. 129-135.
- Tih, A.E., Ghogomu, R.T., Sondegam, B.L., Caux, C., Bodo, B. (2006). "Minor Biflavonoid from *Lophira alata* Leaves". *American Chemical Society and American Society of Pharmacognosy*.
- Underwood, R. M. (1998). *Spectrometric Identification of Organic Compound*. New York: John Willey and Sons Inc.
- Waterman, P.G., Crichton, E.G. (1980). "Xanthones and Biflavonoids from *Garcinia densivenia* Stem Bark". *Phytochemistry*. **40**. 2723-2726.



Wollenweber, e., Dorr, M., Dorsam, M., Hassan, A.E., Ahmed, A.A., Hegazy, M.F., Zeller, P. (2003). "Flavonoids and Terpenoids from the Resinous of *Madia* Species (Asteraceae, Helenieae)". *Zeitschrift für Naturforsch.* **60**. 153-160.

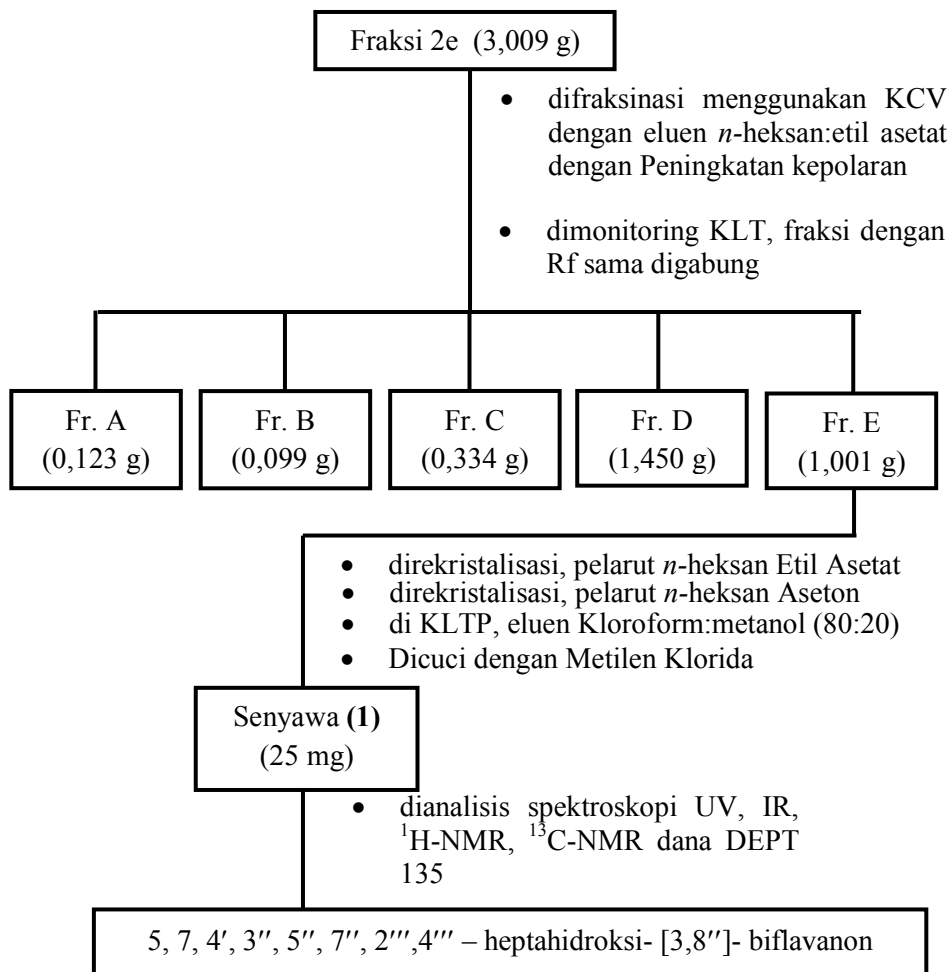
***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

## **DAFTAR LAMPIRAN**

A. Skema Kerja .....	47
----------------------	----

## LAMPIRAN

### A. Skema Kerja



***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

## BIODATA PENULIS



Penulis bernama Mohammad Rasyied Wahyudi. Dilahirkan di kota Jombang, pada tanggal 10 Mei 1993. Merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan di TK Dharmawanita Dermo. Lulus dari TK pada tahun 1999, penulis melanjutkan pendidikan di SDN Dermo 1. Setelah itu menempuh pendidikan

di SMPN 2 Bangil. Lulus dari SMP penulis menyelesaikan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Bangil. Pada tahun 2011, penulis diterima di ITS melalui jalur SNMPTN Undangan pada Jurusan Kimia FMIPA ITS dan terdaftar dengan NRP. 1411100003. DiJurusan kimia penulis mengambil bidang Kimia Organik. Selama menyelesaikan pendidikan di ITS, penulis juga aktif dalam berbagai organisasi mahasiswa. Diantaranya yaitu sebagai Staff Divisi Chemistry Week 2012/2013, Ketua Himpunan Kimia ITS (HIMKA ITS) 2013/2014, staf Sosmas BEM ITS 2012/2013. Kepala Departemen Infokom Badan Pengurus Pusat IKAHIMKI 2012/2014. Penulis dapat dihubungi di [acied.syiel@gmail.com](mailto:acied.syiel@gmail.com).